

Clermond. Ferrand

1972.

EXTRAIT DES

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

(Décembre 1970, tome 119.)

ÉTUDE DE L'INFECTION DE LA LIGNÉE GERMINALE
CHEZ LES DROSOPHILES FEMELLES INFECTÉES
AVEC LE VIRUS SIGMA

II. — MISE EN ÉVIDENCE D'UNE CORRESPONDANCE
ENTRE LES CYSTES OVARIENS A RENDEMENT VIRAL ÉLEVÉ
ET LES DESCENDANTS STABILISÉS

PAR

J. C. BREGLIANO

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

Libraires de l'Académie de Médecine

120, Boulevard Saint-Germain

PARIS



ÉTUDE DE L'INFECTION DE LA LIGNÉE GERMINALE CHEZ LES DROSOPHILES FEMELLES INFECTÉES AVEC LE VIRUS SIGMA

II. — MISE EN ÉVIDENCE D'UNE CORRESPONDANCE ENTRE LES CYSTES OVARIENS
A RENDEMENT VIRAL ÉLEVÉ ET LES DESCENDANTS STABILISÉS (*)

par J. C. BREGLIANO

(Laboratoire de Génétique de la Faculté des Sciences, 63-Clermont-Ferrand)

SUMMARY

In the females of *Drosophila melanogaster* injected with sigma virus (responsible for CO₂ sensitivity) there are 3 types of ovarian egg-chambers (stage 10) which differ in their yield of infecting units. In the progeny of these females, we find 3 types of CO₂ sensitive flies: stabilized, non stabilized and mosaics. This work suggests that the 3 types of infected egg-chambers correspond to the 3 types of infected descendants. More especially, egg-chambers offering the greatest yield of infecting units are likely to give stabilized progeny.

These results lead us to suggest a new hypothesis to explain the installation and the transmission of the stabilized condition.

★ ★

Key words: Sigma virus. *Drosophila*. CO₂ sensitivity. Passing over to germens. Oogenesis. Stabilized condition.

INTRODUCTION

La première partie de ce travail a été publiée récemment dans ce même périodique [4]. Nous avons déjà montré [2, 4] que chez les drosophiles femelles injectées avec le virus σ , les cystes ovariens virosés se répartissent en 3 classes de rendement en unités infectantes (U.I.), tout au moins au stade 10 B (nomenclature de King, Robinson et Smith [10]). Le pourcentage de la classe à rendement maximal (dénommée A) subit un accroissement régulier au cours de la vie des femelles.

Chez ces mêmes drosophiles, les descendants infectés se répartissent en 3 catégories: les stabilisés, les non stabilisés et les mosaïques. Le pourcentage de la première catégorie croît également régulièrement au cours du temps suivant une pente qui n'est pas manifestement différente de celle que fournissent les cystes de la classe A. Si l'on ajoute à cela que, chez des femelles stabilisées, on trouve parmi les cystes 10 B une seule classe de rendement qui est exactement identique à la classe A des femelles injectées, on est

(*) Manuscrit reçu le 9 octobre 1969.

conduit à l'idée que chez ces dernières les cystes riches en U.I. sont les cystes destinés à donner les descendants stabilisés.

Nous avons également montré [4] que, si l'on compare le sous-ensemble des cystes virosés au sous-ensemble des descendants sensibles au CO_2 , le pourcentage des cystes de la classe A parmi les premiers est identique au pourcentage des individus stabilisés parmi les seconds tout au long du passage au germe. Cependant, si l'on compare l'ensemble des cystes étudiés à l'ensemble des descendants, on s'aperçoit que le pourcentage des cystes virosés à l'intérieur du premier est environ 3 fois plus élevé que le pourcentage des descendants sensibles à l'intérieur du second. C'est cette difficulté que nous nous proposons de résoudre dans le présent travail. Nous verrons qu'un certain nombre d'expériences conduisent à l'idée que cet excès est dû à un simple artefact expérimental. Nous discuterons ensuite du mécanisme de l'installation et de la transmission de l'état stabilisé en fonction des données apportées par l'ensemble de notre travail.

Au premier abord, diverses possibilités se présentent à nous pour expliquer l'écart entre le pourcentage des cystes virosés et celui des descendants sensibles au CO_2 . On peut l'expliquer en imaginant, soit qu'un grand nombre de cystes 10 virosés sont guéris définitivement au cours de leur évolution ultérieure et aboutissent à des individus sans virus; soit qu'une certaine proportion de ces cystes ne puisse donner naissance à des imagos par suite d'un effet pathogène de σ . La première éventualité est très peu probable. Dans les résultats publiés précédemment [4] on pouvait remarquer, en effet, que les cystes A représentent à eux seuls 33 p. 100 $\pm$ 4 p. 100 des cystes broyés; chiffre qui est encore très nettement supérieur au pourcentage des descendants sensibles (17,6 p. 100). Il faudrait donc admettre, non seulement que les cystes appartenant aux classes B et C donneraient des individus sans virus, mais qu'il en serait de même pour une fraction importante des cystes de la classe A. Ceux-ci contenant plusieurs milliers d'U.I. dans le seul ovocyte [2], cette hypothèse est hautement invraisemblable.

La deuxième éventualité, supposant une action pathogène de σ , aboutirait, soit à une élimination de cystes stoppés dans leur développement (chose qui serait facilement observable mais n'a jamais été vue dans notre cas), soit à une fréquence d'éclosion des œufs anormalement faible. N. Jupin et coll. [8] ont comparé avec une souche virale apparentée à la nôtre, les fréquences d'éclosion dans les pontes de femelles injectées avec un extrait viral et dans les pontes de femelles sans virus. Contrairement à ce qu'a observé Seecof [15] avec un tout autre type viral, elles les ont trouvées tout à fait semblables. Les quelques données, moins complètes, que nous possédons à ce sujet permettent de penser qu'il en est de même dans nos expériences. Les pourcentages d'éclosion se situent aux alentours de 90 p. 100 dans les 2 cas.

Il faut donc chercher ailleurs que dans l'élimination ou la guérison de certains cystes virosés, l'explication de l'écart entre la proportion des cystes infectés et celle des descendants sensibles.

Il semble, en fait, que cet écart représente une sorte d'artefact expérimental, lié au ralentissement imposé par la présence du virus à l'évolution des cystes. Imaginons, en effet, que les cystes 10 B virosés soient ralentis dans

leur développement ; la durée de ce stade étant plus grande, la probabilité de les prélever par dissection sera plus élevée que pour les cystes sans virus. Le résultat sera bien une différence entre la fréquence réelle des cystes infectés parmi l'ensemble des cystes produits par l'ovaire et la fréquence observée au cours d'un prélèvement instantané.

Il est important de remarquer que si le ralentissement est réellement la cause de l'écart que nous observons entre le pourcentage des cystes virosés et celui des descendants infectés, il doit obligatoirement être du même ordre de grandeur pour tous les cystes virosés quel que soit leur rendement viral. S'il en était autrement, l'artefact expérimental qui en résulte jouerait à l'intérieur même du sous-ensemble des cystes virosés et nous amènerait à surestimer la fréquence de la classe de cystes la plus ralentie. Nous n'aurions pas, dans ces conditions, la corrélation observée entre les classes de cystes et les catégories de descendants. Il peut, au premier abord, paraître étonnant que le ralentissement d'un cyste ne dépende pas de son rendement viral. Cependant, le fait que même dans les cystes les plus pauvres en virus existent quelques dizaines de particules infectieuses permet d'affirmer que les synthèses de matériel viral y sont déjà parvenues à un stade avancé. Il n'est donc pas invraisemblable que dans ces cystes les interférences entre le métabolisme viral et le métabolisme cellulaire y soient à peu près aussi importantes que dans les cystes qui contiennent beaucoup de particules virales mûres. Si ces interférences sont responsables du ralentissement supposé, ce dernier sera sensiblement équivalent pour les 3 classes de cystes.

Quels arguments expérimentaux possédons-nous en faveur du ralentissement des cystes virosés ?

Nous en avons de 3 sources différentes. Tout d'abord les expériences décrites dans l'article antérieur [4] nous ont permis de recueillir des renseignements concernant les rythmes de ponte comparés des femelles infectées et des femelles sans virus. Ces données se révélant insuffisantes, nous avons essayé de synchroniser l'ovogénèse à partir du stade 8 en utilisant les informations apportées par les travaux de Plus [14] avec la fluorodésoxyuridine. Là encore les résultats n'étant pas très concluants, nous avons effectué une troisième série d'expériences pour comparer les nombres moyens de cystes 10 B recensés par dissection chez les femelles injectées et les femelles sans virus. S'il est vrai que ces cystes sont ralentis lorsqu'ils sont virosés, on doit, en effet, en trouver un plus grand nombre chez les premières que chez les secondes, à condition toutefois que le ralentissement n'affecte pas ou n'affecte que très peu les stades antérieurs.

Nous allons décrire successivement ces trois groupes d'expériences en discutant au fur et à mesure les données apportées par chacun.

I. — INFORMATIONS SUR LES RYTHMES DE PONTE

A. — PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX ET RÉSULTATS.

Dans l'article précédent [4] nous avons décrit comment nous déterminions, pour chacune des filles sensibles d'une femelle injectée, l'appartenance à l'une des trois catégories. Nous avons précisé que nous n'examinions, après traitement à 30° C, que la descendance des femelles qui s'étaient révélées

sensibles au CO_2 . Cependant pour l'une des 12 femelles étudiées dans la première expérience, nous avons gardé les descendants de toutes ses filles, résistantes et sensibles, et nous les avons tous soigneusement dénombrés. Les fréquences d'éclosion des œufs ne dépendant pas de la présence du virus, le nombre de descendants nous donne une mesure directe du nombre d'œufs pondus.

Nous sommes donc en possession de données concernant un certain nombre de femelles virosées ou non, filles d'une même femelle inoculée, ayant subi exactement le même traitement et dont nous avons recueilli la ponte pendant une durée de 4 à 7 jours après remise à 20°C (l'âge des femelles était d'une dizaine de jours au début de cette période). Il nous est donc possible de comparer le rythme de ponte des deux types de mouches pendant



FIG. 1. — Comparaison des rythmes de ponte de femelles sensibles au CO_2 (diagramme I) et de femelles résistantes (diagramme II) filles d'une même femelle injectée.

cette période. Sur la figure 1, nous avons construit deux histogrammes : le n° II représente la répartition du nombre moyen de descendants fournis par 24 h pour chacune des femelles résistantes ; le n° I représente la même répartition pour les femelles sensibles au CO_2 . Remarquons que parmi ces dernières il y a une forte majorité de femelles néo-stabilisées.

La moyenne de ces distributions est de 16,6 pour les femelles sensibles et de 24,2 pour les femelles résistantes. La différence entre ces deux moyennes est égale à $7,6 \pm 1,99$ donc largement significative.

Les femelles sensibles au CO_2 (en majorité néo-stabilisées dans le cas présent) pondent donc nettement moins que les femelles résistantes.

Nous avons voulu comparer également les pontes de femelles néo-stabilisées et celles de femelles non-stabilisées. La seconde expérience [4] se prête bien à cette comparaison, car chacune des 3 femelles étudiées a fourni un nombre important de descendants sensibles. Nous avons calculé, pour l'en-

semble de leurs filles, la moyenne du nombre de descendants par femelle et par 24 h pendant les 4 jours qui ont suivi la remise à 20° C. Sur la figure 2, nous présentons la répartition des moyennes obtenues pour les stabilisées d'une part et pour les non-stabilisées d'autre part. Les premières donnent en moyenne $19,45 \pm 0,95$ descendants par 24 h, les secondes en donnent $29,31 \pm 0,93$. Il existe donc un écart très net entre les deux catégories de femelles.

Pour compléter ces informations nous avons voulu comparer également les pontes des femelles injectées avec σ à celles de femelles témoins sans virus.

L'expérience a été réalisée de la manière suivante. Il a été prélevé dans la descendance d'une unique femelle mosaïque, 4 individus sensibles et 4

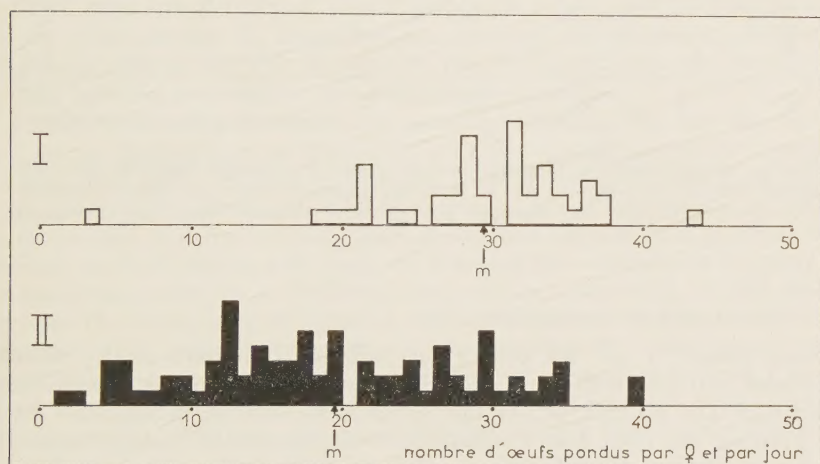


FIG. 2. — Comparaison des rythmes de ponte de femelles non stabilisées [sans p. g.] (diagramme I) et de femelles stabilisées (diagramme II) ; m = moyenne.

individus résistants, qui ont été broyés individuellement. Après centrifugation, chacun des 8 extraits a été inoculé à une dizaine de femelles toutes prélevées dans le même flacon d'élevage afin que leur âge et leurs conditions physiologiques soient les plus semblables possible. Chacun des lots de 10 femelles a été placé dans un tube d'élevage avec 15 ou 20 mâles et transvasé toutes les 24 h jusqu'au 38^e jour après l'inoculation. Tous les descendants ont été soigneusement dénombrés; ceux des femelles injectées avec σ ont en outre été soumis au test du CO₂.

Nous avons groupé d'une part les résultats des 4 lots de femelles virosées, et d'autre part ceux des 4 lots de femelles témoins. Ils sont présentés sur la figure 3. Il est clair que la ponte des premières est toujours inférieure à celle des secondes jusqu'au 28^e jour après l'inoculation, date qui correspond à un infléchissement net de la courbe de redescente du passage au germe. Ensuite les pontes des deux catégories de femelles deviennent identiques.

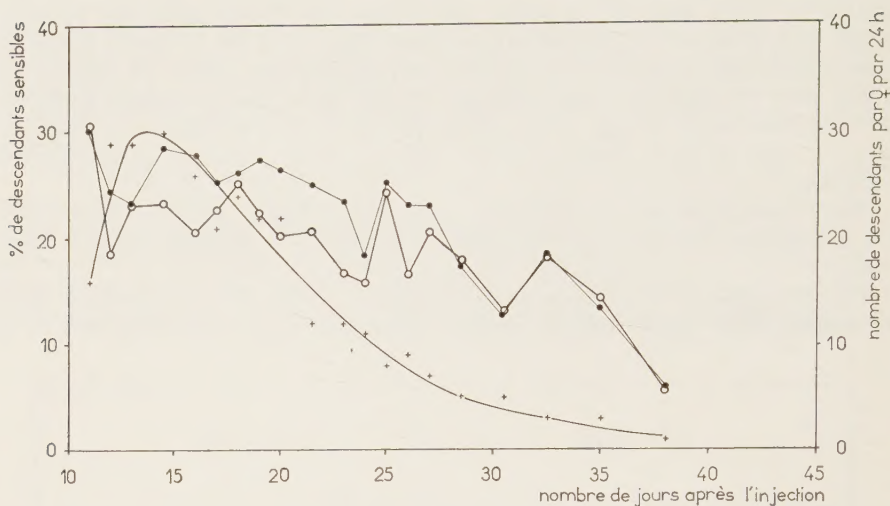


FIG. 3. — Comparaison des rythmes de ponte de femelles injectées avec un extrait témoin (—●—) et de femelles injectées avec un extrait virulent (—○—). Courbe de passage au germe obtenue avec ces dernières (—×—).

B. — DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS.

Nous avons vu que les pontes des femelles stabilisées et des femelles résistantes sont très différentes (fig. 1), les premières étant nettement moins abondantes. On pourrait penser que le ralentissement de l'ovogenèse est lié à la présence du virus dans l'organisme de la mouche et touche l'ensemble des cystes ovariens infectés ou non. Les résultats présentés sur la figure 2 montrent que le même écart existe entre les femelles stabilisées et les femelles non stabilisées dont le passage au germe a été supprimé par le traitement thermique, et permettent donc d'écarter une telle interprétation.

La diminution du rythme de ponte ne peut donc être due qu'à la présence de cystes virosés ralentis dans leur évolution et freinant probablement les cystes situés en amont dans le même ovariole.

Les résultats présentés sur la figure 3 concernant cette fois les femelles injectées, confirment cette conclusion puisque les pontes du lot virosé et du lot témoin ne se rejoignent que lorsque le passage au germe est pratiquement terminé.

Rappelons que Jupin, Plus et Fleuriot [8] qui ont étudié de façon détaillée le rythme de ponte des drosophiles infectées par σ , aboutissent à des conclusions identiques. Il semble dans leurs expériences que le ralentissement porte essentiellement sur les stades terminaux de l'ovogenèse.

Cependant, nos essais de comparaison entre les 3 catégories de cystes infectés et les 3 catégories de descendants sensibles portent uniquement sur les cystes au stade 10 B. Pour expliquer l'écart entre la proportion des cystes virosés et celle des descendants sensibles, il est donc indispensable de savoir

si la durée de ce stade particulier est bien modifiée par la présence de σ . Cette durée étant assez courte (quelques heures d'après nos estimations) peut être allongée ou raccourcie sans influencer notablement sur le rythme de ponte des femelles. Nous ne pouvons donc nous contenter de données générales sur le ralentissement de l'évolution des cystes infectés; il nous faut maintenant essayer de savoir si ce ralentissement touche bien effectivement le stade 10B.

Les deux séries d'expériences suivantes ont été réalisées dans ce but.

II. — ESSAI DE SYNCHRONISATION DE L'OVOGÉNÈSE

A. — PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX.

Cette série qui comprend trois expériences à peu près identiques a été conçue pour essayer de supprimer un éventuel ralentissement différentiel des cystes infectés et voir si dans ce cas, le pourcentage de ces derniers devient égal au pourcentage des descendants sensibles.

Nous avons utilisé la fluorodesoxyuridine (FUDR). On sait que ce produit est un analogue de la thymidine et inhibe spécifiquement les synthèses d'ADN. Plus [14] a montré qu'inoculée à faible dose (de l'ordre de 2,5 μ g) à des drosophiles femelles, la FUDR provoque une chute brutale du rythme de production des descendants. Cette production devient pratiquement nulle pendant 24 à 48 heures, puis croît de nouveau très rapidement et passe par un maximum avant de se stabiliser à un niveau comparable à celle des lots témoins. Des dissections de femelles, effectuées tout au long de cette période, montrent qu'à partir du moment de l'inoculation, les cystes ayant atteint ou dépassé le stade 8 (début de la vitellogénèse) continuent à évoluer jusqu'à maturité et sont pondus à l'état d'œufs apparemment normaux mais n'éclosant pas. Les stades antérieurs sont au contraire bloqués dans leur évolution, ce qui fait qu'à un certain moment tous les ovarioles se présentent avec un cyste terminal au stade 7 ou 8. Après 24 ou 48 h, ces cystes vont se remettre à évoluer normalement et ceci va aboutir à une certaine synchronisation entre les divers ovarioles. Les œufs mûrs étant cette fois viables, celle-ci va se traduire par un pic de fertilité journalière. Ce mode d'action de la FUDR s'explique par le fait que jusqu'au stade 7, en raison de l'endopolyploïdisation des cellules nourricières, les cystes sont essentiellement le siège de synthèses d'ADN, qui diminuent ensuite et font place à des synthèses très importantes d'ARN.

Il est donc théoriquement possible, en disséquant les femelles au moment approprié, de disposer d'ovaires dont la majorité des ovarioles sont terminés par un cyste au stade 10B.

En réalité, de nombreuses difficultés rendent ce type d'expérience très délicat. En particulier les femelles sont sensibles à des variations très faibles de la quantité de FUDR inoculée, une dose donnée peut même agir différemment sur un même lot de mouches, à quelques jours d'intervalle. Si la dose est trop élevée, certains cystes au stade 7 ou 8 dégénèrent, ce qui empêche toute synchronisation. Il est apparu après de nombreux essais que celle-ci était très difficile à obtenir.

Avant d'effectuer les expériences proprement dites, nous avons fait des essais préliminaires, d'une part pour déterminer la dose optimale de FUDR entraînant une certaine synchronisation sans provoquer de dégénérescence des cystes au stade 7, d'autre part pour vérifier que la drogue n'avait aucune influence sur les modalités du passage au germe. La dose la plus convenable semblait se situer autour de $0,5 \mu\text{g}$ par mouche et le p.g. n'était absolument pas modifié.

Pour les expériences de synchronisation nous avons opéré de la manière suivante :

Un extrait viral a été inoculé à des drosophiles âgées de 2 à 4 jours, réparties ensuite individuellement dans des tubes d'élevage avec 2 ou 3 mâles et transvasées tous les 2 jours. Onze à 12 jours plus tard un premier lot de ces femelles était endormi par maintien durant quelques minutes à une température voisine de 0°C ; les mouches étaient inoculées avec une solution de FUDR, replacées dans un tube d'élevage et transvasées à nouveau toutes les 24 h. Deux jours plus tard nous avons opéré de même pour un deuxième lot, et 4 jours plus tard pour un troisième. Les pontes étaient conservées et les descendants soumis au test du CO_2 pour déterminer le pourcentage des sensibles.

Dans chaque lot, quelques femelles étaient disséquées 24 h après l'inoculation ; l'examen de leurs ovaires permettait d'apprécier si la dose inoculée était correcte (présence ou absence de cystes anormaux) et si le degré de synchronisation obtenu était satisfaisant. Dans les cas favorables, les autres femelles étaient disséquées un ou deux jours après, au moment où l'on pouvait penser que les cystes terminaux avaient atteint le stade 10B. Ces cystes étaient alors broyés selon la technique habituelle afin de déterminer la présence ou l'absence d'U.I. Remarquons que pour une femelle donnée le moment propice à la dissection était relativement limité, étant donné la courte durée du stade 10B ; d'autre part, ce moment était difficile à prévoir, étant donné que les différentes femelles n'évoluaient pas de façon strictement synchrone (1). Il se trouvait donc qu'un certain nombre de femelles disséquées l'étaient en pure perte, car elles ne contenaient pas de cystes 10B. Ceci aboutissait à un choix pouvant éventuellement fausser l'expérience. C'est d'ailleurs cette même brièveté du stade 10B qui nous a obligé à échelonner nos inoculations de FUDR afin de disposer d'un plus grand nombre de femelles utilisables. Malgré cette précaution, il ne nous a pas été possible, dans aucune des trois expériences, de prélever plus de 60 cystes au bon stade.

Signalons encore que nous avons pu avoir, pour chaque femelle utilisée, une mesure du degré de synchronisation en comptant le nombre de cystes 10B présents par ovaire et sachant que chez les femelles non traitées, ce nombre se situe en moyenne autour de 4 (voir 3^e série d'expériences).

Dans chaque expérience, 10 à 20 femelles injectées avec FUDR et non disséquées ont servi à mesurer le pourcentage de descendants infectés. Pour comparer cette mesure au pourcentage de cystes virosés, il est en principe

(1) Une synchronisation relativement satisfaisante à la fois à l'intérieur de la femelle individuelle et entre les femelles n'a été obtenue en fait qu'au cours de la troisième expérience.

nécessaire de ne l'effectuer que sur un échantillon de descendants correspondant dans le temps à la population de cystes broyés. Dans chacune des 3 expériences réalisées, il s'est trouvé que le pourcentage de sensibles au CO_2 dans la descendance est resté invariable pendant plusieurs jours après la reprise de la fertilité. L'estimation du décalage entre les cystes et les œufs pondus devenait alors sans objet.

B. — RÉSULTATS :

Les résultats des 3 expériences sont rassemblés sur le tableau I :

TABLEAU I. — Résultats fournis par 3 essais de synchronisation de l'ovogénèse en utilisant la FUDR. Les pourcentages de cystes infectés sont représentés avec leur intervalle de confiance.

	NOMBRE DE CYSTES BROYÉS	% DE CYSTES INFECTÉS	% DE DESCENDANTS SENSIBLES	χ^2 D'HOMOGÉNÉITÉ	NOMBRE MOYEN DE CYSTES 10 B PAR OVARIOLE
1 ^{re} expérience.....	50	12,6 < 22 < 35,6	11	6,2	7,4 $\pm$ 1,49
2 ^e expérience.....	59	21,5 < 32,3 < 45,4	14	13,9	5,6 $\pm$ 1,0
3 ^e expérience.....	51	4,2 < 9,8 < 21,3	9,7	120	10,4 $\pm$ 0,40

Il est intéressant de noter que la 3^e expérience est celle qui s'est déroulée, et de loin, dans les conditions les plus satisfaisantes :

- les ovaires ne présentaient aucun cyste en dégénérescence ;
- la synchronisation entre ovarioles était de loin la meilleure ;
- la synchronisation entre les femelles était également bonne ; nous n'avons pas eu à opérer un choix comme pour les 2 premières expériences.

C. — DISCUSSION ET CONCLUSIONS.

Les informations apportées par cette série d'expérience sont relativement décevantes ; par suite des difficultés dont nous avons fait état, il n'a pas été possible de broyer un nombre important de cystes dans une même expérience ; d'autre part, la synchronisation recherchée n'a été obtenue que d'une manière très relative.

Il n'en reste pas moins que le rapport entre le pourcentage de cystes virosés et le pourcentage de descendants infectés est, pour les trois essais, inférieur à celui que nous avons obtenu lors de l'expérience décrite antérieurement [4] où aucune synchronisation n'était recherchée. D'autre part, plus celle-ci est rigoureuse, plus le rapport diminue : il est égal à 2 dans la première expérience, à 2,3 dans la deuxième et à 1 dans la dernière, pour un nombre moyen de cystes 10B respectivement égal à 7,4, 5,6 et 10,4.

Ces quelques résultats, s'ils ne permettent pas de tirer des conclusions certaines, apportent néanmoins une présomption en faveur de l'hypothèse

selon laquelle le nombre anormalement élevé de cystes virosés prélevés par dissection est lié au ralentissement qu'ils subissent.

Afin d'essayer d'obtenir une autre confirmation de cette idée, nous avons effectué une dernière série d'expériences que nous allons maintenant décrire.

III. — COMPARAISON DES NOMBRES MOYENS DE CYSTES 10 B CHEZ LES FEMELLES INJECTÉES AVEC σ ET CHEZ LES FEMELLES SANS VIRUS

A. — PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL.

Cette série d'expériences a été beaucoup plus simple que la précédente puisqu'elle a consisté simplement à dénombrer des cystes ovariens.

En effet, il paraît évident que, si les cystes 10B sont ralentis lorsqu'ils sont infectés, on doit en dénombrer un plus grand nombre chez les femelles virosées que chez les femelles sans virus, à condition toutefois que tous les stades de l'ovogenèse ne soient pas uniformément ralentis.

Pour observer un éventuel écart entre les nombres de cystes 10B existant chez les 2 types de femelles, il est évidemment nécessaire d'opérer dans des conditions expérimentales rigoureusement homogènes. Nous avons effectué 2 expériences successives en procédant pour chacune de la manière suivante :

Parmi la descendance d'une femelle mosaïque, nous avons prélevé 20 individus infectés, qui ont été broyés collectivement dans une solution physiologique. Après centrifugation, un échantillon du liquide surnageant a été inoculé à un lot de femelles sans virus. La même opération a été effectuée avec 20 individus sans virus, fils de la même femelle. Les deux extraits inoculés ne différaient donc que par la présence ou l'absence de σ . Le premier lot a été dénommé pgS et le second pgR. Par souci d'homogénéité toutes les femelles infectées ont été prélevées dans le même flacon d'élevage. Après inoculation, elles ont été placées par groupes de 6 dans des tubes et croisées avec des mâles sans virus.

A partir du 13^e jour suivant l'inoculation et pendant 2 ou 3 jours, nous avons disséqué les femelles pour compter le nombre de cystes aux stades 10 A, 10 B et dans la deuxième expérience, aux stades ultérieurs. Chaque jour nous disséquions autant de femelles du lot pgS que de femelles du lot pgR.

Il existe une certaine marge d'appréciation personnelle dans la distinction entre les cystes 10 A et 10 B, car leur aspect morphologique est identique et seule leur taille diffère. Ceci nous a amené à prendre une précaution supplémentaire. La même personne a opéré toutes les dissections et une aide se chargeait avant le début de celles-ci de transcrire les indicatifs S et R selon un code secret. L'opérateur ne connaissait donc pas la nature infectée ou sans virus des mouches qu'il disséquait ; cette indication ne lui était communiquée que lorsque les comptages étaient tous terminés.

B. — RÉSULTATS.

Première expérience : Les comptages ont été effectués sur 70 ovaires pour chaque type de femelles ; les 2 distributions obtenues sont présentées

sur la figure 4. La moyenne du nombre des cystes 10 B observés dans le lot témoin est de 4,16 par ovaire, celle du lot injecté avec σ est de 4,86. La différence entre ces 2 valeurs est de $0,70 \pm 0,34$ donc tout juste significative.

Le nombre moyen de cystes 10 A est de 1,91 par ovaire chez les femelles témoins et de 2,91 chez les femelles infectées. Pendant la période considérée, le pourcentage de descendants sensibles au CO_2 est égal à 10 p. 100 ; il est

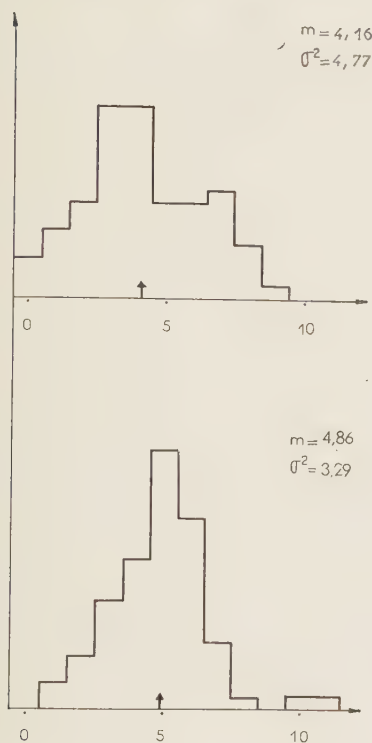


FIG. 4.

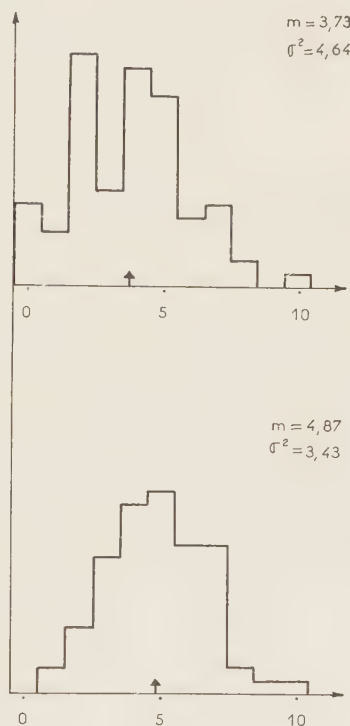


FIG. 5.

FIG. 4. — Distribution des nombres de cystes 10 B recensés par ovaire chez des femelles injectées avec σ (diagramme inférieur) et chez des femelles témoins (diagramme supérieur). Les flèches figurent l'emplacement des moyennes.

FIG. 5. — Même représentation que la figure 4 - 2^e expérience.

assez facile à estimer car il est à peu près stable pendant plusieurs jours, comme lors des expériences de synchronisation.

Deuxième expérience : les comptages ont été effectués sur 78 ovaires de femelles pgS et 72 ovaires de femelles pgR. Les distributions obtenues pour les stades 10 B sont présentés sur la figure 5. La différence entre les 2 moyennes est de $1,14 \pm 0,32$ donc nettement significative. Comme nous avons

également effectué des comptages pour d'autres stades de l'ovogénèse, nous présentons dans le tableau ci-dessous l'ensemble des moyennes obtenues.

Le pourcentage des descendants infectés dans la série pgS est cette fois-ci de 12 p. 100 pendant la période considérée.

TABLEAU II. — Nombres moyens de cystes à divers stades dénombrés chez des femelles injectées avec σ (pgS) et chez des femelles injectées avec un extrait témoin (pgR).

	pgR	pgS
Stade 10 A ...	1,92	2,24
Stade 10 B ...	3,73	4,87
Stade 11 à 13.	1,95	4,05
Stade 14	5,46	6,66

C. — DISCUSSION ET CONCLUSIONS.

Les 2 expériences montrent que les cystes au stade 10 B sont significativement plus nombreux chez les femelles injectées. Quelles conclusions peut-on en tirer ?

Nous avons vu avec les expériences concernant le rythme de ponte que le virus σ a pour effet de ralentir les cystes dans lesquels il est installé. On peut se demander si ce freinage ne peut retentir sur des cystes non virosés. En d'autres termes, l'excès des stades 10B chez les femelles infectées est-il dû au retard des seuls cystes virosés ou également à la présence de cystes 10B sans virus retardés par contrecoup ?

Avant de répondre à cette question, il peut être intéressant de faire une synthèse de toutes les données obtenues sur le ralentissement de l'ovogénèse par le virus σ . Ces données peuvent se résumer en trois points :

1° Le rythme de ponte est sensiblement diminué chez les femelles infectées (fig. 1, 2 et 3).

2° Présence chez ces mêmes femelles d'un nombre plus important de cystes aux stades 10 A à 14.

3° Absence d'accumulation de cystes ovariens de stades identiques ou très voisins.

Le premier point implique un ralentissement global de l'ovogénèse chez les mouches infectées, ce qui ne signifie pas que ce ralentissement soit uniforme parmi tous les cystes et à tous les stades.

Le second point implique que le retard des cystes virosés n'entraîne pas un retard équivalent pour tous les cystes sans virus.

Le dernier point est difficilement conciliable avec le premier. En effet, si l'on a un ralentissement des cystes virosés suffisamment important pour entraîner une diminution du rythme de ponte, cela signifie qu'il doit nécessairement retentir sur les cystes sans virus. Un tel phénomène doit donc se traduire par une accumulation dans un même ovariole de cystes à des

stades très voisins, à moins qu'il n'existe un mécanisme régulateur agissant entre cystes contigus de l'aval vers l'amont.

Nous ne pouvons cependant admettre sans difficultés l'existence d'un tel mécanisme de régulation. Aucun fait actuellement connu chez la drosophile n'y est favorable. On sait en effet que chez des femelles dont la ponte est stoppée mais non l'ovogénèse, les œufs mûrs s'accumulent dans les ovarioles jusqu'au nombre de 4 ou 5. De plus, Jupin et coll. [8] ont observé avec une souche de virus σ apparentée à la nôtre, une diminution importante du rythme de ponte, accompagnée d'une accumulation de 2 ou 3 cystes au stade 14. Précisons que dans leur cas, le passage au germen était nettement plus élevé que dans nos expériences.

Nous sommes finalement conduits à proposer 2 explications différentes pour l'ensemble des faits, sans pouvoir choisir entre elles.

a) Le ralentissement imposé par le virus aux cystes ovariens est faible ; de plus, il ne porte que sur peu de stades de l'ovogénèse. Dans ces conditions, les cystes sont indépendants les uns des autres dans leur évolution ; il n'y a donc pas d'interactions entre ceux qui sont virosés et ceux qui ne le sont pas. Dans cette optique, l'ensemble des faits s'explique bien, sauf la diminution du rythme de ponte qui doit être imputée à d'autres causes.

b) Il existe à l'intérieur de chaque ovariole un mécanisme de régulation jouant entre cystes contigus de l'aval vers l'amont. Ce mécanisme n'a qu'une efficacité relative et n'est efficace que lorsque les perturbations sont peu importantes. Dans ce cas, il faut remarquer que cette régulation ne peut jouer pour les stades 9 à 14. En effet, les ovarioles des femelles pgS, comme ceux des femelles témoins, sont tous terminés (dans nos expériences) par un seul cyste situé entre ces stades. Il n'y a donc aucune possibilité de ralentissement de ceux-ci par un cyste placé en aval. Cette situation nous permet d'affirmer que la durée des stades 9 à 14 ne dépend pour chaque cyste que de l'absence ou la présence du virus.

Ainsi, quelle que soit l'hypothèse adoptée, nous pouvons affirmer que l'excès des stades 10B trouvé chez les femelles pgS est bien dû au ralentissement des cystes virosés par rapport aux cystes sans virus et que l'existence d'un ralentissement secondaire de ces derniers est très peu probable. La deuxième expérience montre de plus que cette conclusion est valable pour tous les stades 10A à 14. Ces expériences sont donc relativement concluantes et il semble raisonnable d'admettre que les écarts systématiquement observés entre les pourcentages de cystes 10B virosés et les pourcentages de descendants sensibles au CO_2 sont un effet du ralentissement de ces cystes.

Avant d'en terminer avec cette dernière série d'expériences, une remarque s'impose. Nous avons recensé une moyenne de 5,46 cystes au stade 14 dans les ovaires de femelles sans virus. Ceci est en désaccord avec les résultats de King qui a observé que tout ovariole était terminé par un cyste 14 [9]. Partant de l'idée que la durée d'un stade doit être proportionnelle à sa fréquence, il en déduit qu'un tel cyste dure 13,3 p. 100 du temps qui s'écoule entre le stade 1 et la ponte. Dans notre cas, sachant que nous avons en moyenne 6,5 cystes par ovariole et environ 20 ovarioles par ovaire, un raisonnement identique à celui de King conduit à estimer cette durée à 4 p. 100. Nos femelles pondant en moyenne 30 œufs par jour et par ovariole, le temps

que met un cyste pour évoluer du stade 1 au stade 14 sera de 8,6 jours. Le stade 14 dure donc 8,2 h. Le même calcul nous conduit à estimer à 6 h la durée du stade 10 B et à 3 h celle du stade 10 A et des stades 11 à 13 réunis.

Comme nous l'avons déjà dit, la différence entre les données de King et les nôtres tient probablement au fait que cet auteur a effectué ses comptages sur des femelles vierges. Ces dernières ont tendance à retenir un certain temps les œufs mûrs dans leurs ovarioles avant de les pondre.

DISCUSSION

1° CORRESPONDANCE ENTRE LES 3 CLASSES DE CYSTES OVARIENS ET LES 3 CATÉGORIES DE DESCENDANTS INFECTÉS

Dans une publication antérieure [2] nous avons déjà discuté des diverses manières d'expliquer la correspondance entre le rendement en U. I. d'un cyste 10 B donc d'un ovocyte et la nature stabilisée ou non de l'individu qui en est issu. L'une des hypothèses proposées paraît particulièrement satisfaisante ; elle peut être développée de la manière suivante.

Un cyste ovarien infecté précocement au cours de son évolution arriverait au stade 10 avec une importante quantité de virions (nous discuterons plus loin cette terminologie). Par voie de conséquence, l'œuf fécondé en serait également très riche, permettant ainsi l'infection dès l'origine de la totalité des cellules formées au début de l'embryogénèse, y compris les cellules germinales primordiales (CGP). Ensuite, au cours de la vie larvaire et nymphale, les génomes viraux se maintiendraient dans la lignée germinale, situation qui réaliserait *ipso facto* chez l'adulte une infection très précoce des cystes ovaires, donc de la totalité des cellules embryonnaires. On voit que, dans une telle hypothèse, la transmission régulière de σ par les femelles stabilisées ne nécessite pas l'existence d'un système d'intégration virus-cellule comparable à celui qui existe chez les bactéries lysogènes, mais résulterait d'une étroite adaptation du virus au cycle de développement de la drosophile.

Remarquons au sujet des cellules germinales que le virus σ n'y a qu'un accès très limité. Tous les faits expérimentaux connus montrent que l'entrée lui en est interdite au stade ovogonial et peut-être aussi dans les premiers stades ovocytaires. Il n'existe en fait pour lui que 2 portes d'entrée possibles dans la lignée germinale : l'une au niveau des premières CGP formées, probablement lorsqu'il est déjà présent dans le plasma germinatif avant l'isolement de ces cellules, l'autre au niveau de l'ovocyte, à diverses étapes du déroulement de l'ovogénèse. Cette dernière possibilité n'existant pas dans la spermatogénèse.

Il paraît logique de penser que, pour chaque œuf, le nombre de cellules somatiques et germinales infectées au début de l'embryogénèse sera fonction du nombre de virions qu'il contient.

Pour la lignée germinale, la conséquence en sera la correspondance entre les 3 classes de rendements des cystes 10 B et les 3 catégories de descendants fournis par les imagos. En effet, il est aisé de comprendre qu'un cyste 10 B qui contient plus de 2,5 unités log. conduira à un embryon dont toutes les CGP seront infectées, donc à un individu stabilisé. Un cyste contenant moins

de 1,8 unités log. donnera un embryon dont aucune cellule germinale ne sera infectée et qui sera donc un individu non stabilisé. Les cystes de la classe intermédiaire donneront en majorité des individus mosaïques car chaque CGP n'aura qu'une certaine probabilité de contenir des virions. Il paraît évident que la correspondance n'est pas aussi stricte que nous venons de l'énoncer. On conçoit très bien qu'un cyste de la classe B puisse donner à la limite un individu stabilisé ou au contraire non stabilisé ; inversement, un cyste de la classe C pourra donner un individu mosaïque si une CGP a été infectée.

En ce qui concerne les cellules somatiques, rappelons tout d'abord que les imagos stabilisées fournissent un rendement viral inférieur à celui des non stabilisées. Il nous faut donc admettre que, pour des raisons qui restent à déterminer, des cellules imaginaires dont l'infection remonte à un stade embryonnaire ne peuvent donner qu'un rendement en U.I. inférieur à celui des cellules infectées tardivement. Ceci admis, un raisonnement identique à celui qu'on a tenu pour les CGP nous conduit à la conclusion que plus un cyste ovarien contient de virions, plus sera grand le nombre de cellules infectées à l'état embryonnaire et par conséquent, plus le rendement de l'imago sera faible.

Il faut maintenant introduire une remarque très importante. Jusqu'à présent dans l'énoncé de notre hypothèse, nous n'avons parlé que de virions, seule forme virale que nous puissions percevoir (sous formes d'unités infectantes) par nos méthodes de dosages biologiques et nous avons raisonné comme s'ils pouvaient être seuls responsables de l'infection des cellules embryonnaires. En fait, on peut se demander si c'est vraiment cette forme virale qui assure, par sa présence dans ces cellules, l'installation et la transmission de l'état stabilisé ou si elle n'est qu'un épiphénomène, un simple reflet du nombre total de génomes viraux contenus dans l'œuf, génomes qui assument le rôle essentiel.

Deux arguments au moins permettent de trancher en faveur de la seconde éventualité.

a) Lors d'une étude sur l'évolution des rendements en U.I. dans l'embryon [3], nous avons montré que ce rendement est constant pendant les premières heures et égal au rendement obtenu dans les cystes au stade 14. Il augmente ensuite très nettement vers la 4^e h au moment de la formation du blastoderme. Cette stabilité pendant la période de segmentation de l'œuf semble indiquer que les virions qu'il contient au moment de la ponte ne retournent pas à l'état végétatif, donc ne sont pas à l'origine de la récolte apparue vers la 4^e heure.

b) L'existence des souches stabilisées perpétuant un virus défectif (mouche ultra- ρ) où n'apparaissent à aucun moment du cycle de l'hôte des particules infectieuses décelables, montre que celles-ci ne sont pas nécessaires à cette perpétuation. Il est donc vraisemblable que dans les souches stabilisées avec un virus normal, elles ne jouent qu'un rôle secondaire sinon aucun.

Ces deux arguments permettent donc de penser que le rôle principal dans la transmission de l'état stabilisé est joué par des génomes viraux non décelables par nos méthodes. Ceci n'affecte pas fondamentalement l'hypothèse énoncée plus haut, mais il nous faut admettre, pour qu'elle reste valable,

que la quantité totale de génômes viraux contenus dans les cystes ovariens des trois classes A, B et C est proportionnelle à la quantité d'U.I. que nous mesurons ; ceci est tout à fait plausible.

Il est impossible de préciser la nature de ce que nous entendons par génômes viraux. C'est évidemment une forme d'ARN viral suffisante pour déclencher un cycle complet dans les cellules embryonnaires. S'agit-il de la forme replicative ou d'une forme à 1 seul brin ? Ne possédant aucune indication au niveau moléculaire, nous ne pouvons répondre à cette question.

Cette hypothèse explique donc d'une manière simple et satisfaisante l'installation du virus σ et sa transmission d'une génération à l'autre chez les mouches stabilisées. A aucun moment nous n'avons eu à faire appel à un état d'équilibre auto-entretenu au niveau cellulaire. Les cystes 10 de la classe A chez les femelles infectées sont dans notre hypothèse strictement identiques aux cystes 10 de femelles stabilisées ; les relations virus-cellule sont les mêmes dans les deux cas. La même chose peut être dite pour les cystes des classes B et C sinon que leur infection étant plus tardive, la quantité de virions (donc de génômes viraux), n'a pas encore atteint le niveau maximal. Quels sont les faits expérimentaux autres que ceux que nous présentons dans ce mémoire qui sont en faveur de notre hypothèse ? Les plus intéressants viennent d'un travail publié par Gay et Ozolins [7]. Leurs résultats s'expliquent remarquablement bien si l'on suppose que la quantité d'U.I., donc de génômes viraux, contenue dans un cyste ovarien détermine directement chez l'imago à la fois son rendement somatique et le nombre de ses ovogonies infectées, c'est-à-dire en définitive son caractère stabilisé ou non.

Il nous faut maintenant voir si ce type d'hypothèse est compatible avec l'ensemble des faits expérimentaux connus à ce jour qui distinguent les individus stabilisés des non stabilisés.

2° RAPPEL DES CONNAISSANCES CONCERNANT L'ÉTAT STABILISÉ

En dehors des modalités de transmission du virus σ à la descendance, les différences essentielles entre les individus stabilisés et non stabilisés peuvent se résumer en 4 points.

- a) Le rendement imaginal est plus élevé chez les individus non stabilisés.
- b) L'état stabilisé peut exister avec un virus défectif (mouches ρ et $\mu\rho$ —, Brun [5]).
- c) Le résultat d'un traitement thermique sur les cystes ovariens est différent chez les 2 types de mouches [5].
- d) Le virus σ subit une dérive génétique chez les stabilisés au cours des générations (Vigier [16]).

Ces 4 points sont énoncés ici dans l'ordre chronologique de leur découverte. Les 2 premiers sont nettement les plus importants, leur influence a été déterminante dans l'élaboration des hypothèses sur la nature de l'état stabilisé.

Nous ne nous étendrons pas sur l'ensemble de ces hypothèses ; ce qui est important pour nous, c'est de rappeler que toutes font appel à 2 types de relations possibles au niveau cellulaire entre le virus σ et son hôte. « A côté

du cycle producteur de virus infectieux, normal pour un virus, existe un autre cycle, le cycle stabilisé, dans lequel la forme infectieuse n'intervient pas » (Brun [5]). Divers modèles avaient été proposés pour expliquer le cycle stabilisé. Plus en 1954 [43] suggérait l'existence d'un provirus analogue au prophage des bactéries lysogènes. Brun et Sigot [6] proposaient une hypothèse d'équilibre de flux suivant le modèle de Delbrück. L'Héritier en 1962 [44] proposait également une hypothèse avec 2 types de relations au niveau cellulaire sans toutefois faire allusion à un modèle précis.

Nous avons vu que notre hypothèse ne nécessite nullement, pour expliquer l'installation et la perpétuation d'une souche virale normale chez les mouches stabilisées, l'existence d'un type de relation virus-cellule particulier. Il nous faut voir maintenant si elle permet d'expliquer l'ensemble des faits connus.

3° CONFRONTATION DE NOTRE HYPOTHÈSE AVEC LES DONNÉES ACQUISES ANTÉRIEUREMENT

Nous ne pouvons développer ici la discussion sur les 4 points énoncés plus haut ; nous ferons simplement quelques remarques concernant la différence de rendement viral entre imagos stabilisées et non stabilisées et nous discuterons principalement de l'existence d'états stabilisés avec virus défectifs, principal argument avancé par Brun en faveur de l'existence de 2 types de relations virus-cellule.

a) *Différence de rendement imaginal entre les mouches stabilisées et non stabilisées.*

Il est très difficile, en l'état actuel des connaissances, de donner une interprétation valable de ce phénomène, car nous sommes ici en présence de faits expérimentaux obtenus au niveau de l'organisme global. Aucune donnée ne nous permet de savoir si les différents tissus de la mouche se comportent ou non de façon identique vis-à-vis de l'infection virale.

Dans le cadre de notre hypothèse, il faut de toute manière admettre que lorsqu'une cellule est infectée à l'état embryonnaire, son contenu global en virions ne pourra jamais qu'être inférieur à celui de cellules infectées tardivement. A partir de là, les hypothèses peuvent être très différentes, selon que l'on interprète le plateau imaginal comme un équilibre statique (persistance pure et simple d'une récolte de virions produite une fois pour toute) ou comme un équilibre dynamique entre un flux de maturation et un flux d'inactivation des virions.

Les données actuelles ne permettant pas de trancher entre ces 2 possibilités, il ne nous est pas possible de proposer une explication complète et satisfaisante des différences de rendement imaginal entre les 2 catégories de mouches infectées. On peut cependant avancer certains arguments contre l'idée qu'elles seraient dues à 2 types de relations virus-cellules.

a) Ces différences ne semblent pas se retrouver dans les cystes 10B. Nous savons, en effet, que du point de vue du rendement en U.I. ceux-ci sont strictement identiques, qu'ils soient issus d'individus stabilisés ou qu'ils appartiennent à la classe A chez les mouches injectées [2]. Si l'on veut expliquer cela dans l'optique d'un état stabilisé au niveau cellulaire, on ne peut même pas invoquer une différence de comportement entre lignée

germinale et lignée somatique ; en effet, l'identité entre les 2 types de cystes s'étend aussi bien à la première (ovocytes et cellules nourricières) qu'à la seconde (cellules folliculaires) [2].

b) Des travaux très récents de Bernard [4] montrent que cette différence de rendements n'existe pas au niveau des disques imaginaux transplantés. Cet auteur a étudié des disques d'individus stabilisés et des disques d'individus sans virus infectés par implantation dans une mouche stabilisée. Ces 2 types de blastèmes implantés dans un hôte sans virus puis prélevés à nouveau et broyés, ont fourni des quantités équivalentes d'U.I. Ces résultats constituent un argument très important en faveur de l'idée qu'au niveau cellulaire n'existe qu'un seul type de relation virus-hôte.

b) *Existence de mouches stabilisées avec virus défectifs.*

C'est l'argument essentiel avancé par Brun [5] pour conclure à l'existence d'un état stabilisé au niveau cellulaire. En fait, les observations peuvent s'expliquer aisément dans le cadre de notre hypothèse.

Tous les faits connus sur les mouches ultra- ρ montrent que le blocage du processus de maturation se situe après la multiplication de l'ARN viral. Tout se passe, en fait, comme si le caractère défectif était dû à l'incapacité des particules virales à franchir des cloisons cellulaires pour propager l'infection, d'où l'existence de mouches qui sont des mosaïques de tissus ultra- ρ et de tissus sans virus : d'où également l'impossibilité de déceler des particules infectieuses par inoculation d'extraits ultra- ρ .

En fait, cette aptitude à franchir des cloisons cellulaires n'intervient sans doute pas au cours de la transmission héréditaire du virus par les mouches stabilisées. Comme nous l'avons déjà dit, lorsqu'un œuf est très riche en génomes viraux, ceux-ci sont probablement répartis dans l'ensemble de l'ooplasmе et lors de la formation du blastoderme et des CGP, les cloisons cellulaires les emprisonnent. Ensuite, ces génomes se répartissent dans les nouvelles cellules formées au cours des mitoses successives et n'auront jamais besoin de franchir des cloisons cellulaires, ni dans la lignée somatique, ni dans la lignée germinale. Nous avons remarqué d'ailleurs pour cette dernière que même les types viraux normaux ne pouvaient y pénétrer, sauf en cours d'ovogénèse et à condition qu'ils soient du type g^+ . En somme, les virus défectifs se trouvent vis-à-vis des cellules somatiques dans la même situation que les types viraux g^- vis-à-vis de la lignée germinale.

Dans ces conditions, l'existence de ces mouches ultra- ρ ne présente aucune incompatibilité avec notre hypothèse.

CONCLUSION

Ainsi les faits expérimentaux que nous avons réunis sur l'ovogénèse des drosophiles stabilisées et injectées nous ont permis, d'une part, d'obtenir des informations nouvelles sur le mécanisme du passage au germe [4], d'autre part, de constater une correspondance entre la richesse d'un cyste en virus infectieux et la nature stabilisée ou non de l'imago qui en est issue. Ce dernier point nous a amené à proposer pour la perpétuation de l'état stabilisé un mécanisme d'auto-entretien jouant au niveau de l'organisme global et de sa reproduction.

Il est évident cependant que si les faits présentés ici ne nécessitent pas, pour être interprétés, l'existence d'un état stabilisé au niveau cellulaire, ils ne permettent pas non plus de l'exclure catégoriquement. En fait, il paraît impossible par les techniques classiques utilisées jusqu'à présent pour l'étude de σ de trancher définitivement ce problème. Des informations intéressantes pourraient être recueillies s'il était possible de doser l'ARN viral contenu dans les ovocytes ; mais il est probable qu'elles non plus ne seraient pas décisives. L'étude de la transmission héréditaire du virus par des cellules en culture ou dans les disques imaginaires implantés sera peut-être une voie plus favorable pour poursuivre l'étude de ce phénomène ; de tels travaux permettront peut-être de voir s'il existe ou non au niveau d'une cellule individuelle deux types possibles de relations avec le virus. Nous avons vu qu'en ce qui concerne les disques imaginaires des résultats importants ont déjà été obtenus.

Si l'hypothèse présentée ici est exacte, le problème de la transmission héréditaire du virus σ par son hôte s'éloigne des modèles d'hérédité épigénétique classique (bactéries lysogènes - équilibre de flux) jouant au niveau cellulaire. Il devient un exemple de mécanisme héréditaire jouant au niveau d'un organisme global. Ceci le rapproche de certains phénomènes rencontrés en morphogenèse végétale, comme, par exemple, le déterminisme de la croissance plagiotropique des stolons de *Stachys silvatica*. Pfirsch [12] a effectué une analyse approfondie sur ce matériel et a mis en évidence l'existence d'un mécanisme physiologique autoentretenu. En effet, un méristème terminal de stolon épigé ne poursuit une croissance horizontale que s'il subit l'influence d'une substance diffusible produite au niveau des nœuds de ce stolon. Cependant, ceux-ci ne synthétisent cette substance « stolonisante » que s'ils appartiennent à un axe plagiotrope. Ainsi nous avons là aussi un exemple de mécanisme qui, une fois amorcé, s'entretient de lui-même. Nous sommes donc, comme dans le cas de l'état stabilisé, en présence d'un type de transmission de l'information autoentretenu au niveau d'un ensemble de tissus.

Remarquons, enfin, que si l'état stabilisé s'éloigne des mécanismes de régulation au niveau cellulaire, il devient, par contre, un exemple remarquable d'étroite adaptation d'un virus au cycle de développement d'un Métazoaire. Il serait certainement intéressant de savoir quel est, dans la nature, le degré de généralité d'un tel mécanisme d'adaptation.



Mots clés : Virus sigma. Drosophiles. Sensibilité au CO_2 . Passage au germen. Ovo-genèse. Etat stabilisé.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BERNARD (J.). Etude du pouvoir infectant de disques d'ailes prélevés sur des larves de drosophiles contaminées par hérédité paternelle. *J. gen. Virol.*, 1970, 6, 433.
- [2] BREGLIANO (J.-C.). Etude de la quantité de virus σ infectieux contenue dans les cystes ovariens de drosophiles stabilisées et inoculées. *Ann. Inst. Pasteur*, 1965, 109, 638-651.
- [3] BREGLIANO (J.-C.). Etude des variations de la quantité d'unités infectantes du virus σ au cours des diverses phases du cycle de son hôte : *Drosophila melanogaster*. Thèse Fac. Sci. Clermont 1969, ref. C. N. R. S., A. O. 3446.
- [4] BREGLIANO (J.-C.). Etude de l'infection de la lignée germinale chez les drosophiles femelles injectées avec le virus σ . I. Evolution au cours du temps des diverses catégories de descendants et de cystes infectés. *Ann. Inst. Pasteur*, 1970, 118, 741-760.
- [5] BRUN (G.). Etude d'une association du virus σ et de son hôte la drosophile : l'état stabilisé. Thèse Biol. Exp. Orsay. 1963.

- [6] BRUN (G.) et SIGOT (A.). Etude de la sensibilité héréditaire au gaz carbonique chez la drosophile. — II. Installation du virus σ dans la lignée germinale à la suite d'une inoculation. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, **88**, 488-513.
- [7] GAY (P.) et OZOLINS (C.). Transmission héréditaire du virus sigma par des drosophiles porteuses du gène « réfractaire ». — I. Etude d'une souche virale $p^- g^-$. *Ann. Inst. Pasteur*, 1968, **114**, 29-48.
- [8] JUPIN (N.), PLUS (N.) et FLEURIET (A.). Action d'une souche de virus sigma sur la fertilité des drosophiles femelles. *Ann. Inst. Pasteur*, 1968, **114**, 576-595.
- [9] KING (R. C.). Oogenesis in adult *Drosophila melanogaster*. — II. Stage distribution as a function of age. *Growth*, 1957, **21**, 95-102.
- [10] KING (R. C.), RUBINSON and SMITH (R. F.). Oogenesis in adult *Drosophila melanogaster*. *Growth*, 1956, **20**, 121-157.
- [11] L'HERITIER (Ph.). Les relations du virus héréditaire de la drosophile avec son hôte. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, **102**, 511-526.
- [12] PFIRSCH (E.). Déterminisme de la croissance plagiotropique chez les stolons épigés de *Stachys silvatica* L. Mise en évidence d'un mécanisme d'autocorrelation. *Amer. Sci. Nat.*, 1965, **VI**, **2**, 339-360.
- [13] PLUS (N.). Etude de la multiplication du virus de la sensibilité au gaz carbonique chez la drosophile. *Bull. biol. France-Belgique*, 1954, **88**, 248-293.
- [14] PLUS (N.). Action comparée de la 5 fluorodesoxyuridine et de la fluorouridine sur le rythme de ponte des drosophiles. *C.R. Acad. Sci.*, 1966, **263**, 1504-1507.
- [15] SEECOF (R. L.). Deleterious effects on drosophila development associated with the sigma virus infection. *Virology*, 1964, **22**, 142-148.
- [16] VICIER (Ph.). Contribution à l'étude de l'instabilité génétique du virus σ de la drosophile. *Ann. Genet.*, 1966, **9**, n° hors série.

